

**ISOLASI SENYAWA XANTHOPHYLL DARI ALGA
COKLAT (*Padina australis*) ASAL KABUPATEN
TAKALAR**

**ISOLATION OF XANTHOPHYLL COMPOUNDS
FROM BROWN ALGAE (*Padina australis*) FROM
TAKALAR REGENCY**

**FITRAH PRANA MULYA
N011 19 1092**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

ISOLASI SENYAWA XANTHOPHYLL DARI ALGA COKLAT (*Padina australis*) ASAL KABUPATEN TAKALAR

ISOLATION OF XANTHOPHYLL COMPOUNDS FROM BROWN ALGAE (*Padina australis*) FROM TAKALAR REGENCY

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**FITRAH PRANA MULYA
N011 19 1092**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

ISOLASI SENYAWA XANTHOPHYLL DARI ALGA COKLAT (*Padina australis*) ASAL KABUPATEN TAKALAR

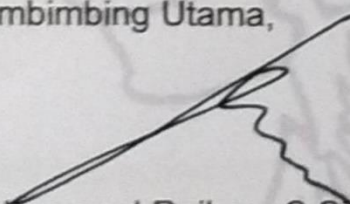
FITRAH PRANA MULYA

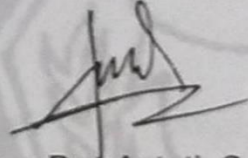
N011 19 1092

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc. Stud., Apt
NIP. 19900528 201504 1 001


Dr. Ayun Dwi Astuti, S.Si., Apt.
NIP. 19930331 202204 4 001

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI SENYAWA XANTHOPHYLL DARI ALGA COKLAT (*Padina australis*) ASAL KABUPATEN TAKALAR

ISOLATION OF XANTHOPHYLL COMPOUNDS FROM BROWN ALGAE (*Padina australis*) FROM TAKALAR REGENCY

Disusun dan diajukan oleh:

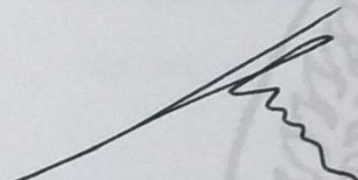
FITRAH PRANA MULYA
N011 19 1092

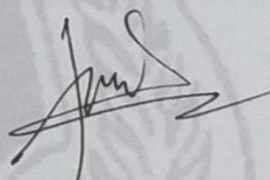
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Studi Farmasi fakultas Farmasi universitas Hasanuddin Pada tanggal 13 juli 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

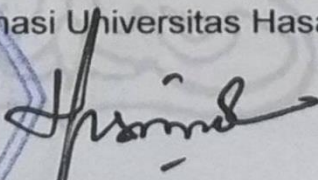
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001


Dr. Ayun Dwi Astuti, S.Si., Apt.
NIP. 19930331 202204 4 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt
NIP. 198601162 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fitrah Prana Mulya

Nim : N011 19 1092

Program Studi : Farmasi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Isolasi Senyawa Xanthophyll Dari Alga Coklat (*Padina australis*) Asal Kabupaten Takalar" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 13 Juli 2023

Yang menyatakan,



Fitrah Prana Mulya

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala limpahan rahmat, taufik, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi berjudul "Isolasi Senyawa Xanthophyll dari Alga Coklat (*Padina australis*) Asal Kabupaten Takalar" yang merupakan salah satu syarat memperoleh gelar sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Sholawat serta salam tak lupa selalu tercurahkan kepada Rasulullah Shalallahu Alaihi Wasallam yang menuntun umat islam ke jalan yang diberkahi Allah Subhanahu Wa Ta'ala.

Skripsi ini penulis persembahkan kepada almarhum ayahanda Muh.Tahir dan almarhumah ibunda Yuniar tercinta yang telah menuntun penulis dan menjadi motivasi utama dalam menyelesaikan studi yang tentunya takkan bisa penulis balas.

Dalam penyusunan skripsi ini terdapat banyak kendala yang penulis hadapi, namun karena kemudahan yang diberikan oleh Allah Subhanahu Wa Ta'ala serta bantuan dari berbagai pihak, sehingga penulis dapat mengatasi kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, perkenankan saya untuk menyampaikan terima kasih saya yang tulus kepada:

1. Dekan, Wakil Dekan, staf dosen, dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan, dan dukungan yang diberikan selama menyelesaikan studi S1 Farmasi

2. Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Dr. Ayun Dwi Astuti, S.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang dengan ikhlas memberikan bimbingan serta waktu, kesabaran dan kepedulian selama penyusunan skripsi hingga selesai.
3. Para dosen penguji, yaitu Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D.,Apt. dan ibu Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci.,Apt. yang senantiasa memberikan kritik serta saran yang membangun dalam penyusunan skripsi
4. Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan arahan dan bantuan selama proses perkuliahan penulis
5. Para laboran di laboratorium farmakognosi-fitokimia terkhusus pada kak Abdi dan Kak Nina dan laboran biofarmaka, kak Dewi arahan selama pelaksanaan penelitian serta membantu dalam menyiapkan fasilitas penelitian di laboratorium
6. Kedua orang tua tercinta, Almarhum ayahanda Muh. Tahir, S.Pd.,MM. dan almarhumah ibunda Yuniar yang telah menjadi motivasi utama penulis dalam menyelesaikan proses pendidikan
7. Saudara-saudari Eggy Artha, S.Kom, Herlin dan Ayudya serta keluarga penulis yang selalu memberikan *support* kepada penulis selama proses pengerjaan skripsi

8. Rekan penelitian alga coklat "Geng Lab Ujung", Asmaria, S.Si, Rabihul Fauziah, S.Si dan Putri Ardinasrayanti Asri, S.Si. yang senantiasa menemani, memberikan bantuan, saran dan motivasi.
9. Kepada teman-teman penelitian (Ni, Nunu, Pebbi, Dales, Grace, Alya, Novel, Claudia, dan Della) yang telah memberi bantuan selama proses penelitian
10. Kepada teman-teman Rusun Hikmat dan Hilman yang selalu memberikan bantuan kepada penulis selama proses perkuliahan
11. Teman-teman Angkatan 2019, DEX19EN, Korps Asisten Farmakognosi-Fitokimia, BEM KEMAFAR-UH Kabinet Kolaboratif serta teman-teman KKNT PS 2 Gel.108 Kab. Soppeng yang senantiasa memberikan dukungan, pengalaman dan ilmu kepada penulis selama berkuliah di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Semua pihak yang tidak bisa disebutkan namanya satu per satu atas bantuan dan kerja samanya kepada penulis. Semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala membalas semua kebaikan yang telah diberikan dan semoga karya ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan terkhusus dibidang kesehatan, Aamiin.

Makassar, 2023

Fitrah Prana Mulya

ABSTRAK

FITRAH PRANA MULYA. Isolasi Senyawa Xanthophyll dari Alga Coklat (*Padina australis*) Asal Kabupaten Takalar (Dibimbing oleh Muhammad Raihan dan Ayun Dwi Astuti)

Alga coklat *Padina australis* merupakan salah satu spesies yang banyak ditemukan di pesisir laut di Kabupaten Takalar Provinsi Sulawesi Selatan. *Padina australis* mengandung senyawa *xanthophyll* yang termasuk dalam kelompok senyawa karotenoid. Senyawa ini bersifat lebih polar sehingga memberikan potensi yang baik dibidang Kesehatan dibandingkan dengan senyawa golongan karoten. Molekul-molekul senyawa yang mewakili *xanthophylls* yaitu *fucoxanthin*, *astaxanthin*, *zeaxanthin*, *cryptoxanthin*. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *xanthophyll* dari *Padina australis* asal Kabupaten Takalar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yakni maserasi, ekstraksi cair-cair, fraksinasi (kromatografi cair vakum, kromatografi kolom konvensional), kromatografi lapis tipis, kromatografi lapis tipis preparatif, spektrofotometri UV-Vis, KLT Densitometri dan FTIR. Hasil yang diperoleh isolat 1 *fucoxanthin* sebanyak 18 mg dengan nilai Rf 0,63, berwarna kuning jingga dan berbentuk serbuk, pengukuran panjang gelombang maksimal yaitu 449,8 nm sementara hasil isolat 2 diperoleh sebanyak 2 mg dengan nilai Rf 0,63 dan berwarna jingga kemerahan. Hasil analisis gugus fungsi isolat 1 yaitu terdapat gugus CH (2960.8; 2918.40; 2854.74 cm^{-1}); C=C=C (1950,10 cm^{-1}); C=O (ester) (1732.13 cm^{-1}); C=C (1658.84; 1610.16 cm^{-1}); C-O (1261.49 cm^{-1}) serta hasil pengukuran persentase jumlah isolat 1 dengan metode KLT densitometri sebesar 1,05% b/b sehingga isolat 1 memiliki profil KLT, spektrofotometri UV-Vis dan FTIR yang mirip dengan senyawa *fucoxanthin*, namun isolat *astaxanthin* tidak memiliki kesamaan data baik dari hasil analisis panjang gelombang, serta gugus fungsi.

Kata Kunci : *Astaxanthin*, FTIR, *Fucoxanthin*, Isolasi, KLT, *Padina australis*, Spektrofotometri UV-Vis, *Xanthophyll*

ABSTRACT

FITRAH PRANA MULYA. Isolation of Xanthophyll Compounds from Brown Algae (*Padina australis*) from Takalar Regency (Supervised by Muhammad Raihan and Ayun Dwi Astuti).

The brown algae *Padina australis* is one of the many species found on the sea coast in Takalar Regency, South Sulawesi Province. *Padina australis* contains xanthophyll compounds which are included in the carotenoid compound group. This compound is more polar so that it provides good potential in the field of health compared to carotene group compounds. Compound molecules that represent xanthophylls are fucoxanthin, astaxanthin, zeaxanthin, cryptoxanthin. This study aims to isolate xanthophyll from *Padina australis* from Takalar Regency. The methods used in this research are maceration, liquid-liquid extraction, fractionation (vacuum liquid chromatography, conventional column chromatography), thin layer chromatography, preparative thin layer chromatography, UV-Vis spectrophotometry, TLC Densitometry and FTIR. The results obtained isolate 1 fucoxanthin as much as 18 mg with an Rf value of 0.63, orange yellow in color and in powder form, the maximum wavelength measurement is 449.8 nm while the results of isolate 2 obtained as much as 2 mg with an Rf value of 0.63 and reddish orange in color. The results of the functional group analysis of isolate 1 showed that there was a CH group (2960.8; 2918.40; 2854.74 cm^{-1}); C=C=C (1950.10 cm^{-1}); C=O (ester) (1732.13 cm^{-1}); C=C (1658.84; 1610.16 cm^{-1}); C-O (1261.49 cm^{-1}) and the results of measuring the percentage of isolate 1 by TLC densitometry method was 1.05% w/w so that isolate 1 had TLC, UV-Vis spectrophotometry and FTIR profiles similar to those of fucoxanthin, but astaxanthin had no data similarity both from the results of wavelength analysis, as well as functional groups

Key words : Astaxanthin, FTIR, Fucoxanthin, Isolation, TLC, *Padina australis*, UV-Vis Spectrophotometry, Xanthophyll

DAFTAR ISI

	halaman
LEMBAR PENGESAHAN	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Alga Coklat (<i>Padina australis</i>)	5
II.1.1 Manfaat <i>Padina australis</i>	6
II.1.2 Kandungan Senyawa <i>Padina australis</i>	6
II.2 Senyawa Karotenoid	7
II.2.1 Karoten	8
II.2.2 <i>Xanthophyll</i>	9
II.2.2.1 <i>Astaxanthin</i>	9
II.2.2.2 <i>Fucoxanthin</i>	10
II.2.2.3 <i>Zeaxanthin</i>	11

II.2.2.4 <i>β-Cryptoxanthin</i>	12
II.3 Hasil Isolasi dan Identifikasi <i>Xanthophyll</i> Alga Coklat	12
II.4 Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi	15
II.4.1 Kromatografi Lapis Tipis	15
II.4.2 Fraksinasi	16
II.4.2.1 Kromatografi Cair Vakum	16
II.4.2.2 Kromatografi Kolom Konvensional	17
II.4.3 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	17
II.5 Karakterisasi	18
II.5.1 Spektrofotometri UV-Vis	18
II.5.2 Densitometri	19
II.5.3 Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i>	21
II.5.4 Kelebihan dan kekurangan instrumen karakterisasi	22
BAB III METODE PENELITIAN	26
III.1 Alat dan Bahan	26
III.2 Metode Penelitian	26
III.2.1 Pengambilan dan Penyiapan Sampel	26
III.2.2 Ekstraksi Sampel	26
III.2.3 Penguapan Pelarut	27
III.2.4 Partisi Ekstrak	27
III.2.5 Fraksinasi	27
III.2.5.1 Kromatografi Cair Vakum	27
III.2.5.2 Kromatografi Kolom Konvensional	28
III.2.5.3 Kromatografi Lapis Tipis	29
III.2.6 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif dan Purifikasi	29

III.3	Karakterisasi	30
III.3.1	Analisis Spektrofotometri UV-Vis	30
III.3.2	Kromatografi Lapis Tipis Densitometri	30
III.3.3	Analisis <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	31
III.3.4	Analisis Data dan Penarikan Kesimpulan	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		32
IV.1	Ekstraksi dan Partisi	32
IV.2	Fraksinasi Ekstrak	34
IV.3	Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	36
IV.4	Karakterisasi Spektrofotometri UV-Vis	42
IV.5	Karakterisasi KLT Densitometri	43
IV.6	Karakterisasi FTIR	47
BAB V PENUTUP		52
V.1	Kesimpulan	52
V.2	Saran	52
DAFTAR PUSTAKA		53
LAMPIRAN		62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan senyawa <i>xanthophyll</i> dari berbagai spesies alga coklat	13
2. Kelebihan dan kekurangan instrument karakterisasi	22
3. Kandungan senyawa <i>fucoxanthin</i> dari beberapa alga coklat	39
4. Hasil analisis persentase jumlah <i>fucoxanthin</i> dalam ekstrak <i>P.australis</i>	44
5. Kadar senyawa <i>astaxanthin</i> dalam beberapa sumber alam	46
6. Analisis FTIR isolat 1 dari alga coklat (<i>Padina australis</i>)	49
7. Gugus fungsi senyawa <i>astaxanthin</i>	50
8. Analisis FTIR isolat 2 dari alga coklat (<i>Padina australis</i>)	51
9. Konsentrasi baku <i>fucoxanthin</i> vs luas area	68
10. Konsentrasi baku <i>astaxanthin</i> vs luas area	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alga coklat (<i>Padina australis</i>)	5
2. Struktur <i>astaxanthin</i>	10
3. Struktur <i>fucoxanthin</i>	11
4. Struktur <i>zeaxanthin</i>	11
5. Struktur β - <i>cryptoxanthin</i>	12
6. Profil KLT hasil partisi ekstrak	33
7. Profil KLT fraksinasi dengan metode KCV	34
8. Profil KLT fraksinasi dengan metode KK	36
9. Profi KLTP pita senyawa <i>xanthophyll</i>	37
10. Profil KLT isolat senyawa <i>xanthophyll</i> ,	40
11. Profil KLT isolat <i>Fucoxanthin</i>	40
12. Profil KLT isolat <i>Fucoxanthin</i> dengan rasio eluen yang berbeda	41
13. Profil KLT senyawa yang diduga sebagai <i>astaxanthin</i>	41
14. Profil KLT densitometri baku dan sampel <i>fucoxanthin</i>	43
15. Grafik kurva kalibrasi baku pembanding <i>fucoxanthin</i>	44
16. Grafik kurva kallibrasi baku pembanding <i>astaxanthin</i>	45
17. Spektrum FTIR isolat 1	47
18. Struktur <i>fucoxanthin</i>	48
19. Spektrum FTIR Isolat 2	50

20. Struktur senyawa <i>astaxanthin</i>	51
21. Sampel <i>Padina australis</i>	64
22. Proses maserasi	64
23. Proses penyaringan ekstrak	64
24. Proses penguapan pelarut	64
25. Proses partisi ekstrak (ECC)	64
26. Identifikasi dengan metode KLT	64
27. Proses fraksinasi metode KCV	65
28. Proses fraksinasi metode KK	65
29. KLT fraksinasi	65
30. Proses KLTP	65
31. Pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis	65
32. Pengukuran luas area dengan KLT densitometri	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja	62
2. Skema kerja isolasi	63
3. Dokumentasi Penelitian	64
4. Hasil Spektrofotometri UV-Vis	66
5. Perhitungan nilai Rf	67
6. Hasil Karakterisasi KLT Densitometri	68
7. Hasil Karakterisasi Spektroskopi FTIR	90
8. Lembar Determinasi	92

DAFTAR SINGKATAN

DAD	= <i>Diode array detector</i>
ESI-MS	= <i>Electron Spray Ionization – Mass Spectrometry</i>
FTIR	= <i>Fourier Transform Infrared</i>
HPLC	= <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPTLC	= <i>High Performance Thin Layer Chromatography</i>
KCV	= Kromatografi Cair Vakum
KK	= Kromatografi Kolom Konvensional
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
KLTP	= Kromatografi Lapis Tipis Preparatif
NMR	= <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
TLC	= <i>Thin Layer Chromatography</i>
UHPLC	= <i>Ultra High Performance Liquid Chromatography</i>

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Studi tentang alga laut terus mengalami peningkatan dalam bidang farmasi meliputi penemuan senyawa bioaktif yang dikembangkan sebagai bahan obat, produk nutrasetikal, kosmetik, makanan sehat hingga desain sistem penghantaran obat. (Artemisia *et al.*, 2019). Indonesia memiliki kekayaan rumput laut sebesar 6,42% dari total biodiversitas rumput laut di seluruh dunia. Terdapat sekitar 452 jenis rumput laut kelas alga merah (*Rhodophyceae*), 196 jenis alga hijau (*Chlorophyceae*) dan 134 jenis alga coklat (*Phaeophyta*) yang tersebar di seluruh perairan laut Indonesia (Pakidi and Suwoyo, 2016).

Alga coklat telah dilaporkan bahwa sebelumnya memiliki aktivitas antioksidan $61,0\% \pm 0,9$ lebih tinggi daripada spesies alga lainnya (Murillo, Hu and Fernandez, 2019 ; Jiao, Reuss and Wang, 2019 ; Prabhu, S. *et al.*, 2013; Othman *et al.*, 2018). *Phaeophyta* atau alga coklat merupakan jenis makroalga dengan jumlah yang berlimpah di pesisir pantai dan laut (Aulia, Khoirunisatul Kurnia and Mulyana, 2021). *Xanthophyll* merupakan senyawa karotenoid namun berbeda dengan senyawa karoten pada umumnya yang tersusun hanya dari hidrokarbon, *xanthophyll* memiliki minimal satu atom oksigen seperti hidroksi, karbonil, karboksilat, epoksida dan kelompok furanoksid dalam molekulnya. Senyawa ini memiliki dua kelompok kutub siklik, satu di setiap ujung molekul. Sehingga dapat meningkatkan

koordinasi molekul dalam membran. *Xanthophyll* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik daripada karoten karena adanya atom oksigen membuat *xanthophyll* bersifat lebih polar (Landrum, J.T. 2009; Maoka, 2009 ; Pereira *et al.*, 2021). Molekul-molekul yang mewakili kelompok ini antara lain *fucoxanthin*, *astaxanthin*, *zeaxanthin*, dan *cryptoxanthin*.

Beberapa spesies seperti *Bifurcaria bifurcate* mengandung *fucoxanthin* dan *zeaxanthin* (Garcia-Perez *et al.*, 2022); *Sargassum horneri*, *Laminaria japonica*, dan *sargassum tenerrimum* mengandung *fucoxanthin* (Airanthi *et al.*, 2011; Das, Hashimoto and Kanazawa, 2008 ; Waghmode, Narayankar and Gaikwad, 2019); *Sargassum polycystum* mengandung *Fucoxanthin*, *astaxanthin*, β -*cryptoxanthin*, dan *zeaxanthin* (Balasubramaniam *et al.*, 2020); *Himantalia elongata* dan *P.australis* mengandung *fucoxanthin* dan *zeaxanthin*. (Garcia-Perez *et al.*, 2022; ; Jaswir *et al.*, 2011; Brotosudarmo *et al.*, 2018).

Senyawa *Xanthophyll* yang paling banyak ditemukan pada alga coklat adalah *fucoxanthin*. Senyawa ini memiliki aktivitas farmakologis seperti anti kanker, pada konsentrasi 0,25 mg/g diketahui senyawa ini dapat digunakan sebagai pengobatan melanoma metastatic. (Méresse *et al.*, 2020 ; Pereira *et.al*, 2021). Selain itu, *fucoxanthin* yang diisolasi dari *P.australis* memiliki sitotoksisitas terhadap sel H1299 (kanker paru-paru) dengan IC₅₀ sebesar 2,45 mM (Jaswir *et al* 2011). *P.australis* merupakan spesies yang berasal dari keluarga *Dictyotaceae* yang memiliki ciri-ciri talus berbentuk lembaran seperti kipas, berwarna coklat kekuningan dengan lebar yang dapat

mencapai 4 cm dan tinggi 7 cm. Pada tiap lembarannya dapat terlihat dengan jelas garis-garis radial yang membentuk segmen. Talus melebar ke arah atas dan mengerucut ke arah pangkal serta rata pada bagian tepi. Spesies alga coklat ini banyak ditemukan pada pantai berbatu dan berombak. Alga ini mengandung senyawa-senyawa seperti pigmen klorofil b, feoforbid, klorofil a, karoten, feofitin a, dan *xanthophyll* (Khasanah, Triyanto and T. Tyas Ismi, 2018 ; Pesang *et al.*, 2020).

Di Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan terdapat delapan spesies alga coklat yang berhasil teridentifikasi yaitu *Padina australis*, *Padina boergesenii*, *Sargassum swartzii*, *Sargassum tenerrimum*, *Sargassum prismaticum*, *Sargassum cinereum*, *Sargassum polycystum*, dan *Sargassum vulgare* (Awalia, 2017).

Xanthophyll diketahui telah banyak diisolasi dari spesies alga seperti *Dunaliella salina* (Yokthongwattana *et al.*, 2005), *Caulerpa sp.* (Putnarubun *et al.*, 2020), hingga pada kelas *Rhodophyta* (Kasanah *et al.*, 2015). Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa *xanthophyll* dari spesies alga coklat (*P. australis*) asal Kabupaten Takalar.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana hasil isolasi senyawa *xanthophyll* dari ekstrak *P.australis* asal Kabupaten Takalar?

I.3 Tujuan Penelitian

Melakukan isolasi senyawa *xanthophyll* dari ekstrak *P. australis* asal Kabupaten Takalar

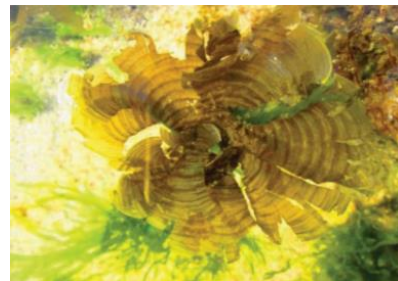
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Alga Coklat (*Padina australis*)

Padina australis merupakan salah satu jenis alga coklat yang banyak ditemukan di perairan pantai Indonesia. Jenis alga ini memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Filum : Ochrophyta
Kelas : Phaeophyceae
Ordo : Dictyotales
Famili : Dictyotaceae
Genus : Padina
Spesies : *Padina australis* (Dominguez H. *et al.* 2023)



Gambar 1. Alga coklat spesies *Padina australis* (Kasanah *et al.*2022)

Padina australis memiliki talus yang berbentuk seperti kipas (*fan-shaped*), berwarna coklat kekuningan dengan lebar dapat mencapai 4 cm dan tinggi 7 cm. *Blade* (seperti daun) datar dan terbelah, berwarna coklat muda serta terdapat garis-garis radial yang membentuk sekat atau segmen pada setiap lembarannya yang berfungsi sebagai indikator kualitas suatu perairan yang berada di sekitar habitat dari spesies ini. Lembaran talus melebar ke arah atas dan mengerucut pada pangkalnya serta rata pada tepian. Alga ini kebanyakan ditemukan pada jarak mulai 2-20 meter dari

bibir pantai, dan daerah yang selalu tergenang air. (Kasanah, N. and T, T.I. 2019; Setiyanto *et al.*, 2022).

II.1.1 Manfaat *Padina australis*

Padina australis merupakan jenis alga coklat yang memiliki nilai ekonomis tinggi karena dapat digunakan sebagai pakan ternak, pupuk, suplemen serta memiliki potensi untuk digunakan dalam bidang farmasi (Saloso *et al.* 2011). *P.australis* diketahui memiliki aktivitas farmakologis sebagai antioksidan, antiinflamasi, antihipertensi, antibakteri, antidiabetik serta efek larvasida yang diduga karena adanya kandungan senyawa *fucoxanthin* dan *fucoidan* yang paling banyak ditemukan pada spesies alga coklat ini (Sadvika I.G.A., *et al.* 2022).

Ekstrak metanol *P.australis* memiliki efek antioksidan yang tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 92,17 ppm (Hidayati J.R. *et al.* 2022). Beberapa studi juga menyebutkan bahwa ekstrak atau senyawa aktif yang terdapat pada *P. australis* memiliki aktivitas anti-neuroinflamasi pada konsentrasi 0,05-0,4 mg/ml (Barbalace M.C., 2019). Selain itu, ekstrak metanol dari alga ini juga memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophylla* (Salosso Y., *et al.* 2020).

II.1.2 Kandungan Senyawa *Padina australis*

Spesies ini mengandung beberapa komposisi kimia seperti kadar air sebesar 87.25%, kadar abu sebesar 2,34%, protein sebesar 1.05%, lemak sebesar 0.58%, karbohidrat sebesar 8.79% dan vitamin E sebesar 162.75 µg/mL. Selain itu, juga mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid,

fenol hidrokuinon, triterpenoid, tanin dan saponin. Selain itu spesies ini juga dilaporkan mengandung senyawa karotenoid seperti *fucoxanthin* dan senyawa fenolik sehingga memberikan potensi dalam aktivitas biologis sebagai antimikroba, antikoagulan, sitotoksisitas, antikanker hingga antioksidan (Maharany F, Nurjanah, Suwandi R, Anwar E, 2017; Mawaddah *et al.*, 2017; Husni & Budhiyanti, 2021).

II.2 Senyawa Karotenoid

Karotenoid berfungsi sebagai pigmen fotoproteksi pada proses perubahan fotokimia selama fotosintesis dengan menangkap spesies oksigen reaktif. Senyawa ini dianggap sebagai agen antioksidan yang tidak biasa oleh karena adanya kehadiran gugus fungsi yang unik seperti ikatan alenik, asetilenik, ujung hidroksil, atau keto di cincin ionon. Pigmen ini banyak dikembangkan dan digunakan secara komersial dalam industri pangan, pakan dan farmasi. β -karoten, *fucoxanthin*, *astaxanthin*, *lutein* dan *zeaxanthin* merupakan beberapa contoh karotenoid yang berasal dari alga dan telah banyak diperdagangkan secara komersial. Pada alga, karoten berfungsi melindungi klorofil dari efek paparan cahaya berlebih dengan menangkap spesies oksigen reaktif (ROS) seperti molekul oksigen singlet dan radikal bebas. β -karoten yang merupakan bagian dari kelompok karotenoid berperan dalam melindungi sel dari radikal bebas. Selain itu, *fucoxanthin* dalam alga bertindak sebagai karotenoid pemanen primer yang mentransfer energi ke kompleks klorofil-protein. Molekul *fucoxanthin* menunjukkan efisiensi transfer energi yang tinggi (~80%) karena struktur

unik karotenoid ini. *Fucoxanthin* juga berperan dalam memberi perlindungan cahaya dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Firdaus M., 2019).

Karotenoid pertama kali diisolasi oleh Wackenroder pada tahun 1831. Pigmen ini dapat secara spesifik menyerap cahaya pada area spektrum ultraviolet dan nampak sedangkan sisanya ditransmisikan atau dipantulkan, sehingga membuat pigmen ini tampak berwarna. Selain perannya dalam fotosintesis, karotenoid diketahui memiliki fungsi penting lainnya dalam melindungi rumput laut dari kerusakan akibat kelebihan cahaya di laut. Karotenoid adalah pigmen terpenoid dengan rantai poliena C₄₀ linier. Rantai poliena dapat disubstitusi dengan gugus siklik dan karotenoid yang mengandung oksigen disebut sebagai xantofil. Oleh karena itu, karotenoid dibagi menjadi dua kelompok: (1) karoten dan (2) xantofil. Selanjutnya, xantofil diklasifikasikan berdasarkan sifat oksigen yang ada, misalnya lutein (oksigen hadir sebagai -OH), dan *astaxanthin* (kombinasi gugus -OH dan oxy). Karoten larut dalam pelarut non polar, sedangkan xantofil larut dalam pelarut polar (Qin, 2018).

II.2.1 Karoten

Karoten merupakan hidrokarbon tak jenuh ganda dengan 40 atom karbon per molekul dan berbagai atom hidrogen. Beta karoten, larut dalam lemak dan menghasilkan pigmen oranye-kuning dan berfungsi sebagai prekursor vitamin A. β -karoten yang merupakan karoten rumput laut adalah sumber utama vitamin A dan digunakan dalam suplemen diet dengan sifat

antioksidan. Lutein dan *zeaxanthin* melindungi pewarna dari stres oksidatif dan berperan penting dalam pencegahan kanker. Lutein adalah turunan dihidroksi dari α -karoten sedangkan *zeaxanthin* adalah turunan dihidroksi dari β -karoten (Rao and Ravishankar, 2022).

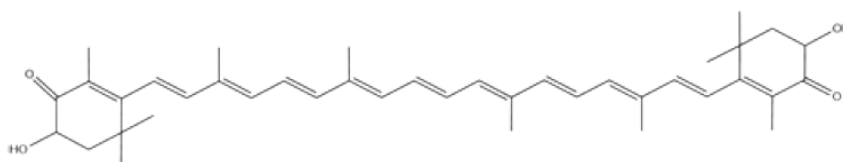
II.2.2 Xanthophyll

Xanthophyll merupakan senyawa polar dari kelompok karotenoid atau biasa disebut *oxy-carotenoids* yang memiliki setidaknya sembilan ikatan rangkap terkonjugasi dan berperan penting pada warna karakteristik karotenoid. *Xanthophyll* memiliki struktur cincin di ujung rantai ikatan rangkap terkonjugasi dengan fungsi polar seperti hidroksil atau keto grup. Molekul-molekul yang termasuk dalam golongan ini adalah diantaranya lutein, *zeaxanthin*, capsanthin, *canthaxanthin*, *beta-cryptoxanthin*, *astaxanthin* dan lainnya. Senyawa ini juga diketahui memberikan peran penting dalam kesehatan manusia (Acton, 2013).

II.2.2.1 Astaxanthin

Astaxanthin adalah pigmen merah yang umum ditemukan pada beberapa organisme air termasuk mikroalga, lamun, udang, lobster dan ikan, seperti salmon dan trout. *Astaxanthin* adalah senyawa berwarna karena adanya ikatan karbon tak jenuh alternatif. Rantai panjang ikatan rangkap karbon-karbon dalam *astaxanthin* juga bertanggung jawab atas sifat antioksidannya seperti halnya karotenoid lainnya. Selain gugus alkena, *astaxanthin* juga memiliki gugus okso-iloheksenil. *Astaxanthin* aman dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang unggul dibandingkan karotenoid

lain dan bahkan vitamin E. Tidak seperti karotenoid lainnya, *astaxanthin* tidak diubah menjadi vitamin A. *Astaxanthin*, dengan aktivitas antioksidan 10 kali lebih kuat dari karotenoid lainnya (misalnya β -karoten, canthaxanthin dan lutein), memberikan perlindungan terhadap kanker, peradangan, dan sinar UV. Sifat menguntungkan dari *astaxanthin*, dikombinasikan dengan kemampuan pewarnaan yang kuat, menjadikannya bahan penting dalam industri nutraseutikal, kosmetik, makanan dan pakan ternak (Osbourn and Lanzotti, 2009; Rahman, Anjum and El-Seedi, 2018).

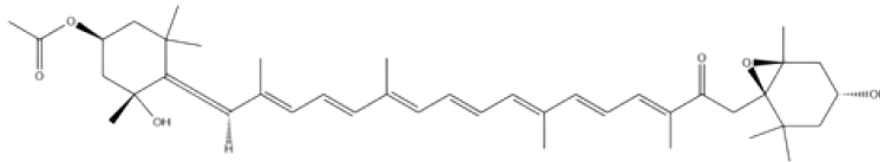


Gambar 2. Struktur *astaxanthin* (Pereira *et al.*, 2021)

II.2.2.2 *Fucoxanthin*

Fucoxanthin merupakan molekul *xanthophyll* yang banyak ditemukan pada alga coklat serta pada beberapa spesies mikroalga. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang unik dengan karakteristik ikatan alenik dan gugus karbonil terkonjugasi. Ikatan alenik ini sebagian besar ditemukan pada karotenoid yang bertanggung jawab atas potensi antioksidan yang lebih tinggi. Karotenoid bifungsional yang unik ini diketahui spesifik terjadi pada rumput laut coklat seperti *Hizikia fusiforme*, *Laminaria japonica*, dan *Undaria pinnatifida*. *Fucoxanthin* telah menarik banyak perhatian karena efek menguntungkannya pada kesehatan manusia. Aktivitas antikarsinogenik *fucoxanthin* dilaporkan menjadi yang terkuat di

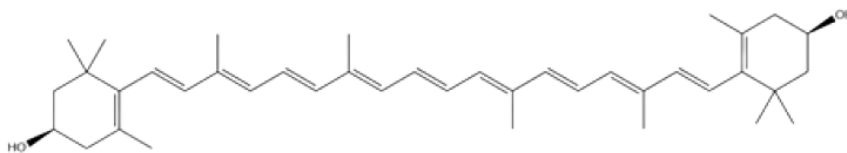
antara *xanthophyll* dan karotenoid lain. Selain itu, *fucoxanthin* telah terbukti mencegah kanker hati dan kulit karena aktivitas antioksidannya dan kanker payudara dan prostat melalui induksi apoptosis (Qin, 2018).



Gambar 3. Struktur *fucoxanthin* (Pereira *et al.*, 2021)

II.2.2.3 *Zeaxanthin*

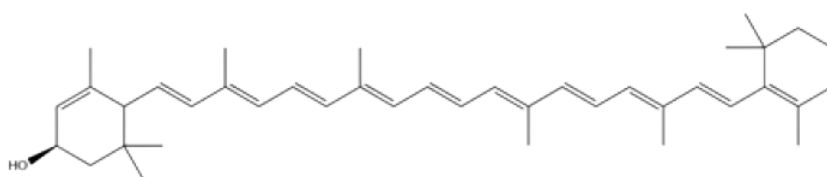
Zeaxanthin memiliki rumus molekul $C_{40}H_{56}O_2$ dan berat molekul 568,88 dalton. *Zeaxanthin* tersusun atas 40 atom karbon, berwarna kuning, dan biasanya ditemukan di jagung, kuning telur, dan di beberapa sayuran dan buah-buahan, seperti alfalfa dan marigold. *Zeaxanthin* tidak memiliki aktivitas vitamin A. *Zeaxanthin* dan lutein memainkan peran penting dalam pencegahan degenerasi makula terkait usia. *Zeaxanthin* adalah isomer dengan lutein; 2 karoten ini berbeda satu sama lain hanya dengan pergeseran ikatan rangkap tunggal terkonjugasi (Kim, 2020).



Gambar 4. Struktur *Zeaxanthin* (Pereira *et al.*, 2021)

II.2.2.4 β -Cryptoxanthin

β -cryptoxanthin adalah karotenoid dengan struktur kimia yang mirip, tetapi lebih polar daripada β -karoten. Pro-vitamin A ini dioksidasi dan isomerisasi dengan adanya cahaya. Senyawa ini digunakan sebagai pewarna makanan di negara tertentu dan dirancang sebagai E161c. Pigmen ini jauh lebih sedikit daripada β -karoten, dan hanya dapat ditemukan di beberapa buah dan sayuran seperti jeruk keprok dan labu (Smaoui *et al.*, 2021)



Gambar 5. Struktur β -Cryptoxanthin (Pereira *et al.*, 2021)

II.3 Hasil Isolasi dan Identifikasi *Xanthophyll* Alga Coklat

Keberadaan senyawa karotenoid kelompok *xanthophyll* diketahui banyak terdapat pada spesies alga coklat (*Phaeophyta*). Hasil isolasi ataupun identifikasi senyawa *xanthophyll* dari beberapa spesies alga coklat dapat dilihat pada tabel 1.

Garcia-Perez *et al.*, (2022) dalam penelitiannya analisis komposisi pigmen dari beberapa spesies alga coklat, diperoleh persen rendemen tertinggi terdapat pada ekstrak etanol alga coklat spesies *Bifuraria bifurcata* sebesar 24.15% dengan kandungan pigmen senyawa *xanthophyll* berupa pigmen *fucoxanthin* sebesar 806.2 $\mu\text{g/g}$ bobot kering dan pigmen

zeaxanthin sebesar 132.7 $\mu\text{g/g}$ bobot kering yang dianalisis menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography-DAD*. Selain itu pada spesies *Himantalia elongate* dengan metode analisis yang sama, diperoleh pigmen *fucoxanthin* sebesar 3114.1 $\mu\text{g/g}$ bobot kering dan pigmen *zeaxanthin* sebesar 119.5 $\mu\text{g/g}$ bobot kering.

Heriyanto *et al* (2017), dalam penelitiannya menggunakan spesies alga coklat *Sargassum crassifolium* dilaporkan konsentrasi senyawa *fucoxanthin* sebesar 0,75 mg/g bobot kering dengan menggunakan instrumen HPLC. Pada spesies alga coklat yang lain yaitu *Sargassum horneri* berhasil diisolasi senyawa *fucoxanthin* menggunakan metode HPLC diperoleh konsentrasi sebesar 2,4 mg/g bobot kering (Terasaki M. *et al.* 2012).

Tabel 1. Kandungan Senyawa Xanthophyll dari berbagai spesies Alga Coklat

Alga Coklat	Konsentrasi Xanthophyll				Metode Analisis	Ref.
	*FCX	*ASX	*CXS	*ZXS		
<i>Sargassum polycystum</i>	2740,0 mg/100 mg	25,5 mg/100 mg	6,1 mg/100 mg	13,9 mg/100 mg	UHPLC-ESI-MS/MS	Balasubramaniam <i>et al.</i> , 2020)
<i>Padina australis</i>	1,64 mg.g ⁻¹ Bobot kering	-	-	4.92 $\mu\text{g.g}^{-1}$ bobot basah	HPLC	Heriyanto <i>et al.</i> , (2017); Brotosudarmo <i>et al</i> (2018)
<i>Sargassum crassifolium</i>	0,75 mg.g ⁻¹ Bobot kering	-	-	-	HPLC	(Heriyanto <i>et al.</i> , 2017)
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	806,2 $\mu\text{g.g}^{-1}$ Bobot kering	-	-	132.7 $\mu\text{g.g}^{-1}$ Bobot kering	HPLC-DAD	(Garcia-Perez <i>et al.</i> , 2022)

<i>Sargassum horneri</i>	2,4 mg.g ⁻¹ Bobot kering	-	-	-	HPLC	(Terasaki M. <i>et al</i> 2012)
<i>Undaria pinnatifida</i>	2,3 mg.g ⁻¹ Bobot kering	-	-	-	HPLC	(Terasaki M. <i>et al</i> 2012)

*FCX= Fucoxanthin *ASX= Astaxanthin *CXS = β -cryptoxanthin *ZXS = zeaxanthin

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Das et al, (2008), tentang penghambatan pertumbuhan sel *human carcinoma* HepG2 digunakan isolat *fucoxanthin* yang berasal dari rumput laut spesies *Laminaria japonica* yang diisolasi dan dianalisis dengan menggunakan metode HPLC.

Pada *Sargassum polycystum* kuantifikasi dilakukan dengan menggunakan metode UHPLC-ESI-MS berdasarkan waktu retensi yang dibandingkan dengan standar otentik sehingga

didapatkan konsentrasi kadar *zeaxanthin*, *fucoxanthin*, β -*cryptoxanthin*, dan *astaxanthin* pada spesies ini secara berturut-turut yaitu 13.9; 2740.0; 6.1; 25.5 mg/100 gram bobot kering.

Analisis pigmen *fucoxanthin* juga pernah dilakukan pada spesies *Sargassum tenerrimum* menggunakan metode HPLC dimana hasil kuantifikasi yang diperoleh yaitu kandungan *fucoxanthin* pada spesies tersebut adalah yang tertinggi jika dibandingkan pada spesies alga coklat yang lain seperti *S.cinereum*, *S. licifolium*, dan *S. wightii* dimana profil hasil HPLC menunjukkan adanya *fucoxanthin* pada waktu retensi 3.755 menit (Waghmode, Narayankar and Gaikwad, 2019).

Sementara pada speises alga coklat *Padina australis* telah dilakukan identifikasi komposisi pigmen *zeaxanthin* dan *fucoxanthin* menggunakan metode HPLC dan ESI-MS dimana hasil yang diperoleh pada waktu retensi 10.13 menit yaitu *trans fucoxanthin* dan 19.55 menit yaitu *zeaxanthin* dan selanjutnya dikonfirmasi dengan ESI-MS/MS dimana spektrum *fucoxanthin* ditunjukkan pada m/z 659.5 dan fragmen ion pada m/z 641.5 dan m/z 581.4, sementara *zeaxanthin* diamati puncak peak pada m/z 568 dan m/z 569.6 (Brotsudarmo *et al.*, 2018). Selain daripada itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Jaswir *et al.*, (2011), berhasil melakukan isolasi senyawa *fucoxanthin* dari spesies alga coklat ini, yang selanjutnya dilakukan pengujian penghambatan pertumbuhan sel kanker paru-paru (H1299).

II.4 Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi

II.4.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan senyawa yang sederhana yang prinsipnya didasarkan atas partisi dan adsorpsi. Adanya perbedaan migrasi disebabkan karena adanya perbedaan afinitas antara fase diam dan fase gerak. Sifat fisika kimia suatu fase diam, fase gerak dan komponen pada sampel menjadi faktor dalam cepatnya proses migrasi komponen kimia. Retensi dan selektivitas kromatografi juga ditentukan oleh interaksi antara fase diam, fase gerak dan komponen sampel yang berupa ikatan hidrogen, pasangan elektron donor atau pasangan elektron-akseptor (transfer karge), ikatan ion ion, ikatan ion-dipol, dan ikatan van der Waals. Senyawa kemudian dideteksi secara alami

yang dilihat dari warna yang dihasilkan atau berfluoresensi atau menyerap sinar UV. Perlakuan penambahan pereaksi penampak noda dengan penyemprotan atau pencelupan terkadang diperlukan untuk menghasilkan turunan senyawa yang berwarna atau berfluoresensi. Pada umumnya senyawa aromatik terkonjugasi dan beberapa senyawa tak jenuh dapat menyerap sinar UV. Senyawa-senyawa ini dapat dianalisis dengan KLT dengan fase diam yang diimpregnasi indikator fluoresensi dan deteksi dapat dilakukan hanya dengan pemeriksaan di bawah sinar UV 254 nm. Identifikasi awal pada proses KLT dapat dilakukan dengan melihat nilai *retardation factor* (Rf) yang kemudian dibandingkan nilainya dengan Rf standar (Wulandari, 2011).

II.4.2 Fraksinasi

II.4.2.1 Kromatografi Cair Vakum

Kromatografi cair vakum (KCV) atau juga dikenal dengan *vacuum Liquid Chromatography* (VLC) merupakan bentuk dari kromatografi kolom yang berfungsi untuk fraksinasi kasar yang cepat terhadap suatu ekstrak. Metode ini sering digunakan sebagai fraksinasi awal dari suatu ekstrak non polar atau semipolar. Kromatografi cair vakum dapat digunakan pada tekanan atmosfer atau pada tekanan lebih besar dari atmosfer dengan bantuan tekanan dari luar. Prinsip kerja dari metode ini adalah adsorpsi dan partisi yang dipercepat dengan bantuan vakum. Metode ini cenderung lebih cepat dan senyawa dapat tertarik dengan sempurna (Irianti *et al.*, 2020).

II.4.2.2 Kromatografi Kolom Konvensional

Kromatografi kolom terbagi menjadi kromatografi kolom terbuka (konvensional) dan kromatografi kolom tertutup. Berdasarkan mekanismenya, kromatografi kolom merupakan kromatografi adsorpsi yang banyak digunakan pada pemisahan senyawa-senyawa organik non-volatil. Pemisahan yang terjadi pada metode ini didasarkan pada adsorpsi komponen-komponen campuran dengan afinitas yang berbeda-beda terhadap permukaan fase diam. Kromatografi kolom termasuk teknik pemisahan cair-padat atau disebut juga kromatografi adsorpsi. Teknik pelaksanaannya dilakukan dengan kolom dengan fase diam dapat berupa silika gel atau alumina. Kelebihan dari metode ini adalah dapat digunakan untuk sampel atau konstituen yang sangat kecil, selektif terutama pada senyawa-senyawa organik multikomponen, proses pemisahan yang dilakukan dalam waktu yang relatif singkat, murah dan sederhana karena pada umumnya tidak memerlukan alat yang mahal dan rumit (Irianti *et al.*, 2020).

II.4.3 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) merupakan metode isolasi yang dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan senyawa dalam jumlah gram. Pelat dapat dipersiapkan lebih tebal (0,5-2 mm). Sampel ditotolkan pada plat silika kemudian dielusikan dengan cairan pengembang sehingga membentuk suatu pita (*band*). Pita yang terpisah dapat dikerok kemudian dilarutkan pada pelarut yang sesuai untuk mendapatkan isolat senyawa

yang diinginkan. Kromatografi lapis tipis preparatif dilakukan untuk pemurnian suatu senyawa dengan jumlah dalam sampel tidak terlalu banyak (2 atau 3 senyawa), sehingga pemisahan senyawa satu dan yang lain akan lebih mudah (Saidi *et al.*, 2018; Fikayuniar, 2022).

II.5 Karakterisasi

II.5.1 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan gabungan antara spektrofotometri UV dan spektrofotometri Vis. Spektrofotometri UV didasari pada interaksi antara sampel dengan sinar UV dengan panjang gelombang 190-380 nm dengan menggunakan sumber sinar deuterium. Sementara itu spektrofotometri Vis menggunakan cahaya tampak sebagai sumber sinar, yakni spektrum elektromagnetik yang dapat ditangkap oleh mata manusia pada kisaran panjang gelombang antara 380 nm - 750 nm, sumber sinar tampak yang umumnya digunakan adalah lampu tungsten.

Spektrofotometri UV-Vis menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda. Instrumen ini paling sering digunakan dan baik untuk sampel yang berwarna ataupun tidak berwarna. Spektroskopi ataupun spektrofotometri UV-Vis melibatkan spektroskopi dari foton pada daerah UV-Vis yang artinya menggunakan cahaya Vis, UV dekat dan IR dekat. Penyerapan dalam rentang visible secara langsung mempengaruhi bahan kimia yang digunakan (Nazar, 2018).

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analitik optik mendasar untuk menyelidiki sifat refleksi, transmisi, dan penyerapan bahan *multi-*

phase (gas, cair, dan padat). Ini digunakan untuk mendapatkan informasi tentang bahan sampel (nanopartikel) seperti celah pita optik, pergeseran biru, efek ukuran kuantum, serta mengukur tepi penyerapan material secara langsung. Tepi serapan didefinisikan sebagai transisi antara panjang gelombang pendek yang kuat dan panjang gelombang panjang yang lemah dalam spektrum padatan semikonduktor. Posisi spektral tepi ini ditentukan oleh pemisahan energi antara valensi dan pita konduksi material. Ada beberapa jenis metode investigasi UV-Vis, dan pemilihan teknik sering dipandu oleh sifat bahan yang akan diselidiki (yaitu padat atau cair), serta informasi yang diperlukan tentang bahan tersebut (Ifeacho, 2008).

II.5.2 Densitometri

Kromatografi Lapis Tipis Densitometri atau KLT kinerja tinggi merupakan teknik instrumental canggih berdasarkan kemampuan penuh kromatografi lapis tipis. Keunggulan seperti otomatisasi, pemindaian, optimalisasi penuh, prinsip deteksi selektif, persiapan sampel minimum, hyphenation, dan lainnya. memungkinkannya menjadi alat analitik yang kuat untuk informasi kromatografi campuran kompleks anorganik, organik, dan biomolekul. KLT Densitometri mengukur kepadatan optik atau fluoresensi setiap pita sepanjang kromatogram. Pada grafik *plotter*, kerapatan optik direpresentasikan pada sumbu vertikal, dengan sumbu horizontal spektrum mewakili jarak dari titik asal. Unit pengukurannya linier. Integrasi puncak kepadatan optik mengungkapkan massa sampel, menghasilkan ukuran kuantitatif konsentrasi pewarna dalam pita KLT. Saat

ini ada dua jenis densitometer, umumnya disebut: klasik (spektrometer) dan video. Densitometer klasik dapat diatur untuk panjang gelombang deteksi spesifik dan area berkas cahaya. Instrumen ini mengukur cahaya yang dipancarkan atau dipantulkan dengan detektor listrik foto. Sebaliknya, densitometer video menghasilkan citra elektronik pelat, dan mengubah intensitas piksel citra menjadi pengukuran kerapatan optik. Densitometer mengukur kerapatan optik pita terhadap penyerap kosong pelat KLT. Tergantung pada desain instrumen tertentu, densitometer dapat dioperasikan dalam mode transmisi atau pantulan, atau keduanya secara bersamaan. Pada transmisi, pengukuran absorbansi mengikuti Beer's Law (Pengukuran bersifat linier)

$$A = \epsilon bC$$

dimana A = absorbansi, b = Panjang jalur ϵ = absorptivitas molar dan C = konsentrasi (Brunelle, 2003; Srivastava, 2010).

Single beam (sinar tunggal), mode pemindaian panjang gelombang tunggal yang paling sering digunakan memberikan hasil yang sangat baik dengan zona yang padat dan terpisah dengan baik. Lampu tungsten-halogen digunakan sebagai sumber untuk memindai zona berwarna dalam kisaran 400-800 nm (penyerapan terlihat) dan lampu kontinum deuterium untuk memindai penyerapan sinar UV oleh zona pada lapisan dengan atau tanpa indikator fluoresensi pada 190 - 400 nm. Monokromator dengan sumber panjang gelombang kontinu ini dapat berupa prisma kuarsa atau, lebih sering, kisi. Detektor adalah photomultiplier atau photodiode. Untuk

pemindaian fluoresensi, lampu uap merkuri atau xenon berintensitas tinggi digunakan sebagai sumber, panjang gelombang eksitasi optimal dipilih oleh monokromator, dan filter pemutus ditempatkan di antara pelat dan detektor untuk memblokir radiasi UV yang menarik dan mentransmisikan pancaran yang terlihat (Grinberg and Rodriguez, 2019).

II.5.3 Analisis Fourier Transform Infrared (FTIR)

Analisis spektrum inframerah memberikan informasi tentang molekul apa saja yang terdapat dalam sampel serta berapa konsentrasinya. Spektroskopi FTIR memberikan keuntungan potensial dibandingkan dengan spektroskopi inframerah *disperse* konvensional yaitu (1) rasio *signal-to-noise* yang lebih tinggi untuk spektrum yang diperoleh dalam kondisi waktu pengukuran yang sama, dan (2) akurasi frekuensi yang lebih tinggi untuk spektrum yang diambil pada rentang yang luas frekuensi. Keuntungan *signal-to-noise* adalah konsekuensi dari pengukuran bersamaan dari sinyal detektor untuk semua elemen resolusi spektrum dan throughput optik yang tinggi dari spektrometer FTIR. (Smith, 2011; Ferraro and Basile, 2012).

Prinsip kerja FTIR yaitu berkas radiasi inframerah dari sumber radiasi diteruskan ke interferometer sebagai pengganti monokromator. Dari interferometer radiasi inframerah diteruskan ke sampel. Sebagian radiasi kemudian diabsorpsi oleh sampel dan sebagian lainnya diteruskan ke detektor. Radiasi yang melewati sampel kemudian diubah menjadi sinyal listrik oleh detektor. Dari detektor sinyal listrik masuk ke amplifier dan filter

listrik dan akhirnya ke dalam sirkuit dan diproses dengan *AD converter* menjadi angka yang kemudian diinterpretasikan (Setianingsih and Prananto, 2020)

II.5.4 Kelebihan dan kekurangan Instrumen karakterisasi

Terdapat banyak instrumen yang dapat digunakan dalam mengkarakterisasi suatu senyawa tergantung dari fungsi atau penggunaan masing-masing instrumen, setiap instrumen memiliki kelebihan dan kekurangan dalam karakterisasi suatu senyawa atau bahan aktif (Tabel 2).

Tabel. 2 Kelebihan dan kekurangan instrumen karakterisasi

Instrumen	Kelebihan	Kekurangan	Ref.
HPLC	Dapat diaplikasikan pada sampel – sampel yang bersifat non-volatil		(Miller J.M, 2005)
	Efisien, selektif dan aplikasi penggunaannya secara luas	Seringkali lebih lambat daripada Kromatografi Gas	
	Kuantitasi yang mungkin dilakukan	Eksperimental lebih kompleks dibandingkan dengan Kromatografi gas	
	Hanya memerlukan sampel dalam jumlah yang sedikit		
	Tidak destruktif	Kurang kompatibel dengan MS	
	Analisis lebih cepat dan lebih presisi dibandingkan dengan HPTLC	Tidak ada detektor yang sesuai untuk FID yang digunakan pada MS	
	Pemisahan yang lebih efisien, deteksi langsung dari instrumen, dan kuantifikasi senyawa dibandingkan dengan HPTLC		

	<p>Pemulihan zat terlarut dari RP-HPLC umumnya lebih baik dibandingkan NP-HPLC</p>		
RP-HPLC	<p>Kebanyakan pelarut yang digunakan transparan terhadap sinar UV, Jadi absorbansi sinar UV dapat diukur pada panjang gelombang yang rendah seperti pada 190 atau 200 nm.</p> <p>Pompa atau penyuntik dengan volume yang relative besar</p>	<p>Fase gerak RP-HPLC biasanya juga mengandung air, dan lebih sulit dihilangkan dibandingkan fase gerak yang digunakan pada NP-HPLC</p>	Lands, W 1985
HPLC-DAD	<p>Sederhana dan perawatan yang mudah</p> <p>Pengembangan metode yang relatif murah</p>	<p>Keterbatasan analitik termasuk kurangnya sensitivitas atau deteksi untuk beberapa senyawa yang tidak menyerap atau berpendar dalam spektrum UV tampak atau dekat</p>	Lord R.S. & Bralley J.A, 2008
UHPLC	<p>Resolusi yang lebih baik dibandingkan dengan HPLC konvensional</p> <p>Kromatografi yang lebih cepat</p> <p>Sensitivitas yang lebih baik (Peak yang lebih tajam dan tinggi)</p> <p>Penggunaan pelarut yang lebih minimal</p> <p>Menahan sistem tekanan balik tinggi</p>	<p>Harga sistem dan suku cadang yang mahal</p> <p>Hanya sistem pompa biner yang dapat digunakan. Masalah ini mungkin membuat metode tidak rata</p>	Rahman A., Ozkan S.A, Ahmed R., 2018

Kromatografi Gas	Pemisahan yang cepat berdasarkan volalitas dan polaritas	Tanpa derivatiasasi hanya untuk senyawa volatile	(Parr A.J. et al, 1999)
	Tidak menggunakan pelarut	Tidak ada kemungkinan manipulasi fase gerak	
Spektrofotometri UV-Vis	Tersedia detektor sensitive universal	Pasokan gas dengan kemurnian yang tinggi diperlukan	(Ortega E.O, 2022)
	Kolom tahan lama	Hasil terdistorsi di luar rentang panjang gelombang	
HPTLC	Sensitivitas yang tinggi	Gangguan dari reaksi zat terlarut-pelarut	(Mukherjee P, 2015; Rai D.K, et al, 2020)
	Pengukuran yang cepat	Kesulitan meningkat pada kuantifikasi campuran	
Spektroskopi <i>Fourier Transform Infrared</i>	Dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif	Non destruktif	(Smith B.C, 2011; Ortega O.E, 2022)
	Non destruktif	Penggunaan fase gerak yang secara luas dapat digunakan	
Spektroskopi <i>Fourier Transform Infrared</i>	Memungkinkan untuk melihat senyawa yang muncul dengan kadar yang sangat kecil	Fase uap perlu dikontrol	(Smith B.C, 2011; Ortega O.E, 2022)
	Meningkatkan reproduibilitas, resolusi dan sensitivitas	Terkadang silika gel muncul selama proses deteksi	
Spektroskopi <i>Fourier Transform Infrared</i>	Ukuran partikel yang kecil (μm)	Artefak (fitur yang ada dalam spektrum sampel yang bukan berasal dari sampel seperti uap air atau <i>peak</i> karbondioksida)	(Smith B.C, 2011; Ortega O.E, 2022)
	Keuntungan <i>Throughput</i>	Ketidakmampuan mendeteksi	

informasi sampel yang luas	senyawa (<i>chemical species</i>) yang tidak bervibrasi
Sensitivitas yang tinggi	Ketidakcocokan dengan air yang
Presisi pengukuran bilangan gelombang	bisa menyebabkan gangguan analisis
